

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1935-1936

N° 23

**Contribution à l'étude des lipides
de la cantharide de Russie**
(*Lytta vesicatoria* Fb.)

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de

Docteur de l'Université de Paris
(PHARMACIE)

présentée et soutenue le 19

PAR

FAUDEMAY, Pierre, Henri, René

JURY { MM. A. GORIS, Président.
H. COUTIÈRE, Professeur.
M. MASCRÉ, Agrégé.

IMPRIMERIE CH. MONTAGNE
148-150, Rue Amelot, Paris.

1936

PERSONNEL

de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. GUERIN, *Doyen*, O. *, ☿ I.
P. LEBEAU, *Assesseur*, O. *, ☿ I.
P. DESPORT, *Secrétaire*, *, ☿ I.

PROFESSEURS

MM. GUERIN, O. *, ☿ I...		Botanique générale.
PERROT C. *, ☿ I. ..		Histoire naturelle des médicaments.
COUTIERE, O. *, ☿ I... ..		Zoologie.
LEBEAU, O. *, ☿ I.		Pharmacie chimique.
BOUGAULT, O. *, ☿ I... ..		Chimie analytique.
GORIS, O. *, ☿ I... ..		Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. *, ☿ I... ..		Physique.
DAMIENS, *, ☿ I... ..		Chimie minérale.
HERISSEY, O. *, ☿ I... ..		Chimie biologique.
SOMMELET, *, ☿ I.		Chimie organique.
LUTZ, *, ☿ I... ..		Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, *, ☿ I.		Toxicologie.
LAUNOY, O. *, ☿ I.		Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. *, ☿ I.

Professeurs honoraires :

MM. BEHAL, G. O. *, ☿ I. et DELEPINE, O. *, ☿ I., membres de l'Institut
et GUERBET, *, ☿ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *, ☿ I... Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. *, ☿ I. ... Pharmacodynamie.
DELABY, *, ☿ I... .. Hydrologie et Hygiène.
PICON, ☿ I. Chimie minérale.
BACH, ☿ I. Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, *, ☿ A.	MM. BACH, ☿ I.
PICON, ☿ I.	BEDEL, ☿ I.
MASCRE, ☿ I.	REGNIER, ☿ I.
FLEURY, ☿ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, ☿ I., *agrégé*, chargé des T.P. de 1^{re} année... Chimie générale.
FLEURY, ☿ I. et REGNIER, ☿ I. : *agrégés*,

chargés des travaux de Chimie analytique.

SOUEGES, ☿ I.	Micrographie.
LEROUX, *, ☿ I... ..	Physique.
DEVAL, *, ☿ I.	Microbiologie.
DELABY, *, ☿ I., PICON, ☿ I. et MASCRE, ☿ I. :	

agrégés, chargés des travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en Chef : M. BERNARD, ☿ I.



**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES LIPIDES DE LA CANTHARIDE
DE RUSSIE
(*Lytta vesicatoria* Fb.)**

JUIN 1936

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ALBERT GORIS,

Membre de l'Académie de Médecine

Officier de la Légion d'honneur

Directeur de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux

En témoignage de ma respectueuse gratitude.

MEIS ET AMICIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. --- INTRODUCTION

Les huiles et graisses d'insectes ont déjà suscité de nombreux travaux analytiques d'ordre plus ou moins général ; mais à part des études homogènes sur les lipides extraits de la cochenille (1), du hanneton (2) et du ver à soie (3), les renseignements offerts par la littérature apparaissent assez disparates (4). On peut constater que parmi toutes les espèces d'insectes étudiées, deux seulement intéressent directement la Pharmacie : ce sont la cochenille, *Coccus Cacti* L. (hémiptères), et la cantharide, *Lytta vesicatoria* Fb. (Coléoptères).

(1) ETUDES RELATIVES AUX LIPIDES EXTRAITS DE LA COCHENILLE :

LIEBERMANN : Ueber das Wachs und die Fette der Cochenille, *Ber. d. D. Ch. Gesell*, 1885, **18**, 1975-1983.

E. RAIMANN : Ueber das Fett der Cochenille. *Sitzungsberichte der Wien. Akad.*, 1885 **92**, 1126.

F. HOPPE. — Ueber das Age oder Axin, ein in Mexico bereitetes trocknendes Fett. *Journ. f. pr. Chem.*, 1860, **80**, 102-117.

R. HUERRE · Sur la graisse de cochenille et la présence d'acide linoléique dans cette graisse. *Journ. Pharm., Chim.*, 1911, [7], **4**, 56.

(2) ETUDES RELATIVES AUX LIPIDES EXTRAITS DU HANNETON :

WITTSTEIN : Maikäferöl. *Handwörterbuch der reinen und angewandten chemie.*, 1851, **5**, 56.

S. RABOW : Verwertung der Maikäfer zur Fettgewinnung. *Chem. Zeit.*, 1916, **40**, 401.

E. KOPP : Ueber das Maikäferöl. *Pharm. Monatshefte.*, 1926, **7**, 175.

Or, si les lipides extraits de la cochenille ont été l'objet de nombreuses recherches, la seule publication relevée sur l'étude chimique de la graisse de cantharides de Russie surprend par son ancienneté; c'est en effet en 1853-1854 que A. GÖFSMANN (5) étudia la graisse de *Lytta vesicatoria* séparée comme résidu de l'extraction de la cantharidine.

La date déjà lointaine de parution de cette étude pouvait justifier une nouvelle analyse des matières grasses de la cantharide officinale.

Ces recherches ont été entreprises sur le conseil de M. M.-M. JANOT, qui avait rencontré certaines difficultés au cours du dosage de la cantharidine dans différentes espèces de coléoptères vésicants.

(3) ETUDES RELATIVES AUX LIPIDES EXTRAITS DU VER A SOIE :

LASSAIGNE : Note sur l'existence d'une huile fixe dans le ver à soie, *Journ. Ch. méd.*, 1844, **20**, 471-472.

A. MENOZZI et A. MORESCHI : Ricerche nel gruppo della colesterina ; del gruppo della colesterina nelle crisalide del baco da seta (*Bombyx mori*). *Rend. R. Acad. Lincei*. 1908, **17**, 95.

M. TSUJIMOTO : Chrysalis oil ; composition. *Journ. Coll. Engineering. Imp. University*, Tokio. 1908, 455.

L. DESVERGNES : Examen d'huiles de chrysalides. *Ann. Ch. Analyt. et Chim. appl.* 1920, **11**, 80.

J. LEWKOWITSCH : Technologie et analyse chimique des huiles, graisses et cires. Traduction française de E. Bontoux, 1929.

(4) ETUDES RELATIVES AUX LIPIDES DE DIVERS INSECTES :

E. BARRUEL : D'une matière grasse trouvée dans les pucerons *A. Rosae* et *A. Sambuci*. *Journ. Ch. Méd.*, 1831, **7**, 486-490.

C. SCHALL : Undecan als Hauptbestandtheil des flüchtigen Ameisenöls. *Ber. d. D. Ch. Gesell.* 1892, **25**, 1489.

R. DUBOIS : Sur l'huile d'œufs de la sauterelle d'Algérie (*Acridium peregrinum*). *C.R. Acad. Sc.*, 1893, **116**, 1393-1394.

Les résultats acquis par A. GÖFSMANN peuvent se résumer ainsi :

La graisse extraite à l'éther a une consistance butyreuse et une odeur piquante de cantharidine. Elle est fortement colorée en vert et son point de fusion est de 34° ; sa réaction est nettement acide. L'auteur pense que l'acidité constatée est due à la présence d'acides libres. Il a pu ensuite séparer la graisse en deux parties : une partie volatile acide, dans laquelle il a caractérisé la cantharidine, et une partie non volatile formée de matières grasses fortement acides. Parmi les acides insolubles, l'auteur isola de l'acide élaïdique et de l'acide margarique. L'année suivante (1854), il reprit l'étude de cet acide margarique et montra qu'il était formé par un mélange d'acide palmitique fondant à 59° et d'un autre acide fusible à 69°5 qu'il considéra comme de l'acide stéarique.

NORMANN : Sur une graisse de diptères du genre *chironomus*. *Chemical Review*, 1913, **20**, 187.

H. THOMS : Ueber ein Schmetterlingsfett. *Arbeit. aus d. Pharm. Ind. d. Univ. Berlin.*, 1913, 180.

U. ROCCI : Contribution à la connaissance des graisses d'insectes. *Arch. Ital. de biologie.*, 1916, **65**, 53.

BUNSUKE SUZUKI et YOSHIKUMI : Sur la structure chimique des glycérides du ver à soie. 1927 Yokohama.

CHEVALLARD (Mlle G.). — Contribution à l'étude chimique du ver à soie (*Bombyx Mori*), *Thèse Doct. Univ.*, Lyon 1928.

M. TSUJIMOTO : Untersuchungen von Insektenölen-I. Leucht-Käfer, Heuschrecken und Grillenöl. *Journ. Soc. Chem. Ind. Japan*. Suppl. 1929. Résumé dans *Chem. Umschau F. und Oele*. **13**, 209.

J. TIMON-DAVID : Recherches sur les matières grasses des insectes. *Thèse Doct. Sciences*, Paris 1930.

Nous devons une attention spéciale aux travaux de M. J.

Timon-David sur les lipides des insectes. Ses études publiées de 1927 à 1930 ont porté sur une cinquantaine d'insectes et sont réunies dans son important travail de thèse.

A part des essais grossiers sur la séparation en huile verte ou jaune de la graisse de la cantharide par THOUVENEL (1778), BEAUPOIL (1803), ROBIQUET (1810), BERTHOUD (1856), FERRER (1859), FUMOUBE (1867), LISSONDE (1869), BÉGUIN (1874), et quelques données sur la teneur en graisses établies par certains des auteurs précédents et en plus par GALIPPE (1876) et BEAUREGARD (1901) (7), nous n'avons pu trouver d'autres renseignements sur la constitution des lipides.

Toutefois des savants indous (6) ont étudié récemment l'huile de *Mylabris pustulata* Fb. (India), insecte vésicant voisin de *Lytta vesicatoria*, et ils ont assigné la composition approximative suivante aux lipides extraits de ce mylabre :

Matières insaponifiables	5 %
Acide palmitique	11 %
Acide stéarique	27 %
Acide oléique et isomère....	46 %
Acide arachidique	1 %
Cantharidine dissoute	10 %

M^e A. COURTOIS DRILHON : Etudes biochimiques sur la métamorphose des lépidoptères. *Thèse Doct. Sciences*. Paris 1931.

G. COLLIN : Fatty acids from the larva of the beetle « *Pachydermus dactris* », L., *Biochem. Journ.*, 1933, **27**, 1373-1374.

S. UENO et H. IKUTA : The composition of the saturated fatty acids of Japanese chrysalis oil. *Analyst*, 1934, **59**, 745-746.

S. UENO et R. YAMASAKI : Recherches sur l'huile de mille pattes. *Journ. Soc. Chem. Ind. Japan*. 1934, **37**, 507-510.

L. C. WAUNG : Etude du produit huileux de la drogue chinoise « chiu-hsiang-chung » provenant de l'insecte « *Aspongopus chinensi* Dallas », *Journ. Pharm. Soc. Japan.*, 1935, **55**, n° 635, 8-14.

(5) A. GÖFSMANN : Ueber die Natur der Fette der canthariden. *Ann. Chem. u. Pharm.* 1853, **86**, 317-330.

A. GÖFSMANN : Ueber die Margarinsäure im Fette der Canthariden. *Ann. Chem. u. Pharm.*, 1854, **89**, 123-125.

Nous exposerons notre travail d'après le plan suivant :

CHAPITRE PREMIER

- A) Description de la drogue officinale.
- B) Caractères généraux de divers échantillons commerciaux de *Lytta vesicatoria*.
- C) Procédés d'extraction des lipides.
- D) Méthodes d'analyse employées.

CHAPITRE II

Analyse des lipides de deux échantillons différents de *Lytta vesicatoria*.

Avant de relater les résultats obtenus dans cette thèse, je tiens à exprimer à M. le Professeur A. GORIS mes sentiments de très respectueuse affection. Pendant les cinq années passées dans son laboratoire, j'ai eu le bonheur de vivre auprès de ce Maître toujours aimé de ses élèves. Il n'a jamais cessé de me conseiller et de m'encourager, tant au cours de mes études, qu'au cours de ce travail.

Je prie M. le Professeur H. COUTIÈRE, membre de l'Académie de Médecine, de recevoir ici le témoi-

(6) B. H. IYER et P. RAMASWAMI AYYAR : The fatty acids from oil of cantharis (*Mylabris pustulata* Fb., India). *Journ. of. Ind. Inst. of Sciences*, 1931, **14**, 40-45.

(7) H. BEAUREGARD et H. COUTIÈRE : Matière médicale zoologique, Paris 1901. C. Naud, édit., p. 315.

gnage de ma profonde reconnaissance. Sa vaste érudition, exprimée sous une forme si originale, avait enchanté ma vie d'étudiant; je le remercie aujourd'hui de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de faire partie de mon jury.

J'adresse tous mes remerciements à M. le Professeur agrégé M. MASCRÉ, qui a bien voulu également faire partie de mon jury de thèse.

Je dois à MM. M.-M. JANOT et H. CANAL d'avoir pu mener à bien ce travail. Ils ont su me guider et me faire partager leur enthousiasme pour la recherche et ils savent l'affection reconnaissante que je leur garderai toujours.

L'esprit critique de mes camarades R. POTTIER et F. GALLAIS m'a toujours été très précieux et je suis heureux de leur en exprimer toute ma gratitude.

Je dois aussi mes remerciements à Mlle M. TH. FRANÇOIS, chargée de cours de Matière Médicale à la Faculté de Pharmacie de Nancy, qui a toujours mis sa documentation sur les lipides à ma disposition avec la plus grande amabilité.

Enfin, je garderai le souvenir inoubliable de l'atmosphère de bonne humeur et de sympathie que surent toujours faire régner au laboratoire mes camarades : Mlle M. BERNIER, Y. BREUGNOT, E. FRONTIER, R. GORNICK et MM. J. LAURIN, E. CIONGA, P. BEAUGEARD, CH. ESTÈVE, H. TRISTANT, A. BERMOND, P. GONNARD et R. GOUTAREL.

CHAPITRE PREMIER

A. — Description de la drogue

La cantharide officinale est la cantharide de Russie, *Lytta vesicatoria* Fb., ou *Cantharis vesicatoria* Geof., insecte vésicant de l'ordre des coléoptères hétéromères.

Ces insectes apparaissent vers le mois de mai dans nos contrées, où on les rencontre en essaims. Ils vivent sur les arbres dont les feuilles tendres constituent leur nourriture et on les rencontre surtout sur les lilas, les frênes et les troènes, où leur présence est parfois décelée par leur odeur particulière.

La récolte se fait le matin au petit jour, alors que les insectes sont encore engourdis par le froid de la nuit ; on dispose des draps sous les arbres et on y fait tomber les cantharides en secouant les branches. On les tue, généralement, en les plongeant dans le vinaigre ou en les exposant à ses vapeurs. D'autres méthodes consistent à employer des vapeurs d'essence de térébenthine, de benzène, ou de sulfure de carbone. Après dessiccation sur des claies, les insectes sont conservés dans des flacons bien secs et bien bouchés.

On récolte des cantharides en Espagne, en Sicile, dans le midi de la France, en Roumanie, en Pologne et en Russie. Malgré leurs noms de « mouches d'Espagne » ou « de Milan » qui sembleraient attribuer une origine méridionale à ces insectes, les diverses

variétés commerciales proviennent surtout de Pologne et de Russie (8). On rencontre aussi de nombreuses espèces voisines en Amérique.

Pour l'usage pharmaceutique, on emploie « l'imago » ou insecte parfait. Le Codex en donne la description suivante que nous reproduisons intégralement : « Cet insecte d'un vert métallique à reflets mordorés, long de 15 à 22 millimètres, large de 5 à 7 millimètres, possède une tête cordiforme, pourvue d'un sillon longitudinal médian et séparée du thorax par un rétrécissement en forme de cou; des antennes noires, filiformes, comprenant onze articles courts; un thorax distinct de l'abdomen, plus large en avant qu'en arrière et sillonné, comme la tête, sur sa face dorsale; des ailes membraneuses de couleur brunâtre; des élythres plus larges que le thorax, finement grenues, longues et flexibles, recouvrant totalement l'abdomen presque cylindrique. L'odeur est forte et désagréable. La teneur en principe actif de la poudre ne doit pas être inférieure à « 4 gr. de cantharidine par kilogramme de poudre ».

Selon ROBIQUET (9), qui a découvert la cantharidine en 1810, la cantharide de Russie contiendrait : 1) une huile grasse verte fluide, non vésicante; 2) une matière jaune inerte; 3) de l'acide urique; 4) de l'acide acétique; 5) des phosphates de chaux et de magnésie; 6) de la cantharidine à laquelle elle doit ses propriétés vésicantes.

Les analyses totales exécutées au cours du siècle dernier sur la composition chimique de la cantharide

(8) H. COUTIÈRE : *Le Monde Vivant*, **3**, 231.

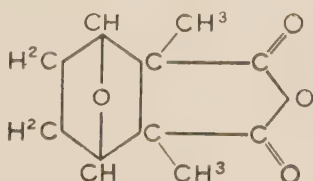
(9) M. ROBIQUET : *Expériences sur les cantharides*, *Annales de Chimie*, 1810, **76**, 304-321.

peuvent se résumer ainsi d'après BEAUREGARD (10) :

- 1° De la cantharidine (ROBIQUET).
- 2° Une matière grasse verte (THOUVENEL, BEAUPOIL, ROBIQUET).
- 3° Une matière grasse jaune.
- 4° Une matière brune, soluble dans l'eau et l'alcool (BEAUPOIL).
- 5° Une matière extractive soluble dans l'eau (THOUVENEL).
- 6° Une huile essentielle (ORFILA).
- 7° De l'albumine.
- 8° Une substance animale brune.
- 9° De la chitine.
- 10° Des acides acétique et urique.
- 11° Des sels.

On peut s'étonner de l'ancienneté relative de toutes ces données.

Pratiquement, seule la cantharidine a retenu l'attention des chimistes. Les travaux modernes lui ont assigné la formule suivante $C^{10}H^{12}O^4$.



Les effets vésicants et rubéfiants qu'elle confère à la poudre de cantharide et à toutes ses formes médicamenteuses sont bien connus. La poudre de cantharides lui doit sa grande toxicité.

(10) H. BEAUREGARD : Les insectes vésicants. Paris 1890. Félix Alcan, édit., p. 190.

Rappelons pour mémoire les formes médicamenteuses usuelles. La Pharmacopée française fait préparer trois types de poudre, réservée chacune à un usage déterminé :

- 1) Poudre grossière (tamis n° 9) :
Teinture de cantharides.
 - 2) Poudre demi-fine (tamis n° 15) :
Pommade épispastique jaune.
 - 3) Poudre fine (tamis n° 37) :
Pommade épispastique verte.
Emplâtre vésicatoire.
Emplâtre de cantharides mitigé et Sparadrap vésicant.
-

B). — Caractères généraux de divers échantillons commerciaux de Lytta vesicatoria

Notre étude a d'abord porté sur cinq lots de cantharides d'origines différentes. Chacun d'eux a été pulvérisé au mortier couvert et passé au tamis n° 15 avec toutes les précautions nécessaires à la manipulation de cette poudre dangereuse.

Nous avons dosé :

L'eau : par dessiccation de la poudre à l'étuve à 75°, jusqu'à poids constant ou par séjour dans un dessiccateur renfermant de l'anhydrique phosphorique.

Les cendres : par calcination de la poudre dans un four à moufle porté au rouge pendant une demi-heure.

La graisse : par épuisement complet au Soxhlet par de l'éther de pétrole léger bouillant entre 30° et 50°.

La cantharidine : par un procédé mis au point au laboratoire par M. M.-M. JANOT et qui doit faire l'objet d'une publication ultérieure.

Les résultats suivants ont été obtenus :

N ^o	ORIGINE	EAU	CENDRES	GRAISSE	CANTHARIDINE
1	Russie	6,8 %	6,5 %	13,5 %	0,70 %
2	Russie	6,4 %	9,9 %	3,5 %	0,46 %
3	Russie	9,3 %	9 %	4,2 %	0,40 %
4	Espagne . .	9,3 %	5,5 %	12,7 %	0,45 %
5	Roumanie .	8,8 %	7 %	9,3 %	0,45 %

L'examen de ce tableau montre des différences très importantes dans la teneur en matières grasses des divers échantillons commerciaux de cantharide. Ces différences, en ce qui concerne les cantharides de Russie, peuvent être expliquées par l'étendue du territoire russe. Ceci permet de supposer que, sous un nom de pays unique, nous recevons des insectes provenant de régions assez différentes par la diversité de climat et d'habitat qu'elles présentent.

Pour l'étude des lipides de la poudre de cantharides, nous avons été amené à fixer notre choix sur les échantillons numéros 1 et 2, tous deux originaires de Russie et les deux seuls dont nous possédions des quantités suffisantes pour effectuer l'analyse des lipides. D'ailleurs ces deux lots étaient les plus intéressants par leur origine géographique, qui est celle de la plus grande partie des sortes commerciales qu'on trouve sur le marché, et aussi pour les écarts extrêmes qui caractérisent leurs teneurs en lipides.

C). — *Procédés d'extraction des lipides*

Sous le nom de « graisse », nous désignons la partie qui correspond aux lipides solubles dans l'éther de pétrole par extraction continue de la poudre (Ether de pétrole bouillant entre 50° et 70°). L'épuisement est considéré comme complet, lorsqu'une goutte d'éther de pétrole évaporée sur une lame de verre n'y laisse pas de résidu sensible. On obtient alors la graisse après distillation du solvant.

Ce traitement a donné les résultats suivants :

Echantillon	Poids de poudre	Lipides obtenus	Rendement %
N° 1	1.900 gr.	275 gr.	14,4
N° 2	1.930 gr.	68 gr.	3,5

Le dégraissage des poudres N° 1 et N° 2 à l'éther de pétrole a été parachevé par un nouvel épuisement de la poudre par l'éther ordinaire, afin d'obtenir les matières grasses résiduelles qui avaient échappé à l'action de l'éther de pétrole et d'en faire un bref examen analytique.

On obtient, après ce deuxième traitement, une « huile résiduelle » qui renferme vraisemblablement une petite partie de corps gras libres ayant échappé à l'action dissolvante de l'éther de pétrole et probablement une partie des lipides protoplasmiques, selon une notion particulière introduite par A. MAYER et G. SCHAEFFER (11), puis par TERROINE (12). La poudre

(11) A. MAYER et G. SCHAEFFER : Recherches sur la teneur des tissus en lipoides. *Journ. Physio. et Pathol. médicale*, 1913, **15**, 500-524.

N° 1 a ainsi fourni un résidu huileux du poids de 26,5 gr. (soit environ 1,4 %), qu'une reprise à l'éther de pétrole léger a débarrassé de la cantharidine qui s'y était dissoute à la faveur de l'éther sulfurique.

La poudre N° 2 a fourni dans les mêmes conditions un résidu huileux du poids de 17 gr. (soit 0,9 %).

D). — Méthodes d'analyse employées

A côté des méthodes spéciales de recherche que nous décrirons à propos des manipulations auxquelles elles ont donné lieu, nous avons employé, pour caractériser chaque groupe de corps gras, le procédé général des « indices » classiques.

L'indice de neutralisation et *l'indice de saponification* sont trop connus pour être à nouveau décrits ici. Les résultats qu'ils ont fourni ont été exprimés en milligrammes de potasse pour un gramme de matière grasse.

L'indice d'iode a été déterminé par la méthode de WIJS recommandée par le Conseil de l'Union internationale de Chimie pure et appliquée (13).

a) Préparation de la liqueur de WIJS : « On dissout 9 gr. de trichlorure d'iode dans un litre d'acide acétique glacial, ou dans un mélange de 700 cc. d'acide acétique glacial et de 300 cc. de tétrachlorure de car-

(12) TERROINE : Nouvelles recherches sur l'influence de l'inanition et de la suralimentation sur la teneur des tissus en substances grasses et en cholestérine. *Journ. Physio. et Pathol. médicale*, 1914, **16**, 408-418.

(13) R. DELABY et R. CHARONNAT : Sur la détermination de l'indice d'iode. *Bull. Sc. Pharm.*, 1928, **35**, 692.

bone, et on en détermine la concentration de la manière décrite plus loin. Ensuite, on ajoute 10 gr. d'iode pulvérisé et on agite pour le faire dissoudre jusqu'à ce que la teneur en halogène, déterminée de la même manière, atteigne une fois et demie celle de la première détermination. On filtre alors et, si on le désire, on peut diluer avec de l'acide acétique jusqu'à ce que 5 cc. équivalent exactement à 10 cc. d'hyposulfite de sodium (Thiosulfate 1/10 N).

On détermine l'halogène comme suit : on prend exactement 5 cc. de la liqueur, on ajoute 5 cc. d'une solution d'iodure de potassium au 1/10 et 30 cc. d'eau, et on titre avec de l'hyposulfite (thiosulfate) 1/10 N et de l'amidon comme indicateur. L'acide acétique glacial à 99 % et le tétrachlorure doivent être rigoureusement exempts de matières oxydables. On les contrôle en agitant 1 cc. ou 2 cc. d'acide ou de tétrachlorure avec un peu d'acide sulfurique concentré et 1 goutte d'une solution concentrée de bichromate de potassium. Il ne doit se produire aucune coloration verte ».

b) Détermination d'un indice d'iode : « L'essai se fait de la manière suivante : on dissout la quantité nécessaire de l'huile ou de la graisse dans environ 5 cc. de tétrachlorure de carbone, on ajoute 25 cc. de la liqueur de Wijs. Après mélange, on laisse à l'abri de la lumière directe du soleil, pendant une heure pour les graisses et les huiles non siccatives, et pendant deux heures pour les graisses et les huiles siccatives. On ajoute alors 10 cc. de solution d'iodure de potassium au 1/10 et 100 cc. d'eau et on titre avec de l'hyposulfite de sodium 1/10 N.

Le coefficient de dilatation du liquide par la chaleur étant très grand (0,00115), on doit veiller à pren-

dre les 25 cc. pour l'essai à blanc et les 25 cc. pour l'essai même, à la même température » ; l'indice d'iode est exprimé par le poids en grammes d'halogène absorbé par 100 gr. de corps gras.

Pour la détermination des groupements hydroxyles, nous avons déterminé *l'indice d'acétyle* en suivant la technique indiquée par R. DELABY et Y. BREUGNOT (14) que nous résumerons brièvement :

Le réactif acétylant est constitué par un simple mélange de :

Anhydride acétique (Eb. 135°-140°) 1 partie

Pyridine (Ed. 115-116) séchée sur

P²O⁵ 2 parties

La technique est la suivante : le matériel de verre employé doit être parfaitement sec. On pèse 1 à 3 gr. de matière grasse dans un petit tube de verre. On introduit celui-ci dans un récipient à fond plat de 125 à 150 cc. On y fait couler 10 cc. de réactif acétylant au moyen d'une pipette jaugée, par écoulement libre vertical et sans toucher les bords du récipient. Celui-ci est surmonté par un tube réfrigérant de 1 mètre environ auquel il est relié par un bouchon de caoutchouc. On prépare un témoin dans les mêmes conditions. Essai et témoin sont plongés de 1/2 heure à 2 heures dans l'eau bouillante (le liquide du ballon à 3 ou 4 cm. en dessous du niveau de l'eau du bain-marie). Laisser refroidir puis laver les tubes réfrigérants, les bouchons et les cols des récipients à l'eau distillée en recueillant les eaux de lavage dans les récipients correspondants.

Refroidir à nouveau témoin et essai et titrer avec

(14) R. DELABY et Y. BREUGNOT : Sur la détermination rapide de l'indice d'acétyle des corps gras. *Bull. Sc. Pharm.*, 1932, **39**, 354.

une solution de soude $1/2 N$ en présence de phtaléine du phénol.

Soit N cc. de soude au titre t pour le témoin et n cc. pour l'essai ; p grammes la prise d'essai. L'indice exprimé en milligrammes d'acide acétique par gramme de corps gras est :

$$\frac{60 (N-n) t}{p}$$

ou bien, si la prise d'essai possède une acidité exprimée par a cc. de soude de titre t , l'indice devient :

$$\text{indice} = \frac{60 t (N - n) + a}{p}$$

CHAPITRE II

PREMIERE PARTIE

ETUDE DES LIPIDES EXTRAITS DE LA POUDRE N° 1

GRAISSE N° 1 EXTRAITE A L'ETHER DE PETROLE

Caractères physiques :

La graisse brute de l'échantillon N° 1 se présente sous la forme d'une masse solide, de couleur verte, d'odeur aromatique, et possède une légère action vésicante sur les parties sensibles de la peau (entre les doigts, par exemple).

Le point de fusion de la graisse est de 35°. Sa densité a été prise après élimination de toute trace de dissolvant par distillation de celui-ci sous pression réduite et barbotage d'un courant de gaz carbonique. Si nous admettons le coefficient de dilatation généralement adopté pour les huiles et graisses (0,00065), la densité de la graisse à 15° est égale à 0,924.

Une solution à 4 % dans le tétrachlorure de carbone, examinée au polarimètre avec un fort éclairement (faisceau dirigé d'une lampe à sodium), ne montre aucune déviation sensible du plan de polarisation.

L'examen spectroscopique de la graisse, en solution dans l'alcool ou dans l'éther, montrait une très nette absorption dans le rouge et présentait les bandes d'absorption caractéristiques de la chlorophylle (déterminées par comparaison avec une solution témoin de chlorophylle).

TICHOMIROV (15) en 1884, avait déjà identifié la chlorophylle dans la graisse de cantharides de Russie. De nombreuses huiles et graisses d'insectes obtenues surtout par extraction à l'éther possèdent une teinte verte directement liée à leur nourriture ; leur système digestif contient de la chlorophylle, presque tous ces insectes étant surtout phyllophages.

L'indice de réfraction n'a pas été déterminé, en raison de l'intense coloration de la graisse et aussi de sa grande acidité libre qui ferait de cette détermination une variable sans intérêt (16).

Caractères chimiques :

Les indices de la graisse brute N° 1 complètement privée de dissolvant montrent la présence sous forme libre, d'une proportion élevée d'acides gras, en grande partie non saturés :

Indice de neutralisation	169
Indice de saponification	187
Indice d'iode	100
Indice d'acétyle	131

(15) TICHOMIROV : Die spectroscopischen Eigenschaften der Canthariden und ihrer Präparate. *Separatabdruck aus der pharmaceutischen Zeitschrift für Russland*, 1884.

(16) P. RIVALS et L. MARGAILLAN : Matières grasses et industries dérivées, cires, 1934, J. B. Baillière, Paris. *Détermination des constantes physiques*, p. 178.

Nous avons étudié successivement :

- 1° Les acides libres ;
- 2° La graisse neutre et les acides provenant de la saponification ;
- 3° L'huile résiduelle N° 1 provenant de l'épuisement par l'éther ;
- 4° Les matières insaponifiables extraites de la graisse et de l'huile après saponification.

1° *Acides libres*

Les acides libres ont été séparés de la graisse neutre, en neutralisant les lipides dissous dans l'éther par une quantité calculée de potasse alcoolique et en nous assurant avec le papier réactif de R. POTTIER* que nous atteignons un léger excès d'alcalinité ; après agitation avec de l'eau, les acides libres transformés en sels de potassium passent en solution.

Des agitations répétées de la solution aqueuse du savon potassique avec de l'éther permettent d'extraire la graisse neutre (matières insaponifiables et esters d'acides gras). L'épuisement de la solution aqueuse est complet lorsqu'une goutte de la solution éthérée desséchée sur du sulfate de sodium anhydre ne laisse pas de résidu sensible par évaporation sur une lame de verre.

Les savons potassiques en solution dans l'eau, sont alors décomposés par addition d'un léger excès d'acide

* *Note* : Papier réactif de R. POTTIER, indicateur mixte, à base d'un mélange de rouge de méthyle, de bleu de bromothymol et de diméthylaminoazobenzène.

sulfurique dilué au 1/10 et les acides gras ainsi libérés sont épuisés à l'éther.

Les solutions éthérées des acides libres et de la graisse neutre sont respectivement lavées à l'eau distillée, par agitation dans une ampoule à décantation.

Elles sont séchées par agitation sur du sulfate de sodium anhydre, avec lequel on les laisse en contact pendant vingt-quatre heures. On filtre.

Après élimination du solvant, nous avons ainsi obtenu pour 100 gr. de matière grasse brute :

65 gr. d'acides libres,
et 31 gr. 7 de graisse neutre.

La grande proportion d'acides libres, souvent constatée dans les huiles ou graisses d'insectes, est due probablement à l'hydrolyse des lipides dans le corps de l'insecte. La libération des acides gras doit commencer lors de la dessiccation et se poursuivre pendant toute la durée de la conservation des insectes.

La recherche des acides volatils solubles, par la méthode de DUCLAUX (17), effectuée sur les eaux sulfuriques de décomposition des savons de potassium a donné un résultat négatif.

Les acides libres bruts, constituant la plus grande partie de la graisse totale, se présentent sous la forme d'une masse solide vert clair et d'odeur caractéristique.

Ils possèdent les caractères chimiques suivants :

Indice de neutralisation	205
Poids moléculaire moyen	273
Indice d'iode	98

(17) DUCLAUX : Sur le dosage des alcools et des acides volatils. *Annales Inst. Pasteur*, 1895, **9**, 265-280.

Nous avons séparé ces acides en acides saturés et en acides non saturés par la méthode classique de VARRENTRAPP (18), qui repose sur la différence de solubilité dans l'éther des sels de plomb des acides saturés et des acides non saturés.

On prépare les sels de potassium des acides à identifier. Puis une double décomposition, à chaud, avec un excès d'une solution aqueuse à 7 % d'acétate neutre de plomb bouillante, donne les sels de plomb des acides gras.

Ceux-ci sont rapidement lavés à l'eau chaude (70-80° environ) pour éliminer l'excès d'acétate de plomb, puis séchés le plus soigneusement possible et traités à l'ébullition par de l'éther qui dissout seulement les sels de plomb des acides non saturés (acides liquides). Leur solution éthérée est portée 24 heures à la glacière, afin de précipiter la petite quantité des sels de plomb d'acides saturés dissous à la faveur de l'éther bouillant, puis on filtre.

Le filtrat est décomposé par de l'acide sulfurique dilué au 1/10, qui libère les acides non saturés et précipite le plomb sous forme de sulfate. Les acides non saturés passent dans l'éther qu'on lave à l'eau distillée et qu'on sèche. Par distillation du solvant sous pression réduite, on obtient les acides non saturés bruts.

Une décomposition parallèle des sels de plomb insolubles dans l'éther donne les acides saturés bruts.

Les acides libres ont ainsi fourni environ :

50 gr. % d'acides saturés bruts,

et 50 gr. % d'acides non saturés bruts.

(18) VARRENTRAPP : Ueber die Oelsäure. *Ann. Chem. u. Pharm.* 1840, **35**, 197.

Les acides non saturés et les acides saturés bruts présentaient une teinte verte prononcée.

Acides saturés :

Les acides saturés bruts décolorés (par agitation prolongée de leur solution éthérée avec de la poudre de charbon végétal) cristallisent en une masse blanche dont le point de fusion est de 54-55°. Leur indice de neutralisation est égal à 230.

Des cristallisations successives d'une solution concentrée d'acides dans l'éther à la température de la glacière, ont fourni un mélange d'acides purifiés dont le point de fusion s'élève à 59°-59°5.

Dans le but de les identifier, nous les avons transformés en esters méthyliques en suivant la méthode classique :

25,6 gr. d'acides saturés purifiés, après dessiccation dans le vide sulfurique, sont dissous dans deux volumes d'alcool méthylique pur.

Après addition de 2,5 cc. d'acide sulfurique pur, on porte à l'ébullition pendant trois heures au réfrigérant à reflux. Après refroidissement, la solution alcoolique acide d'esters méthyliques ainsi obtenue est étendue de trois fois son volume d'eau distillée et neutralisée par un léger excès de carbonate acide de sodium.

On épuise les esters méthyliques par agitations répétées avec de l'éther. Les solutions éthérées sont ensuite agitées avec une solution aqueuse à 5 % de carbonate de sodium, afin d'éliminer les dernières traces d'acidité minérale et de transformer en savons les acides gras non estérifiés.

La solution dans l'éther des esters méthyliques est ensuite lavée à l'eau distillée, puis séchée par agitation avec du sulfate de sodium anhydre. Le dissolvant est éliminé sous pression réduite.

Cette opération a ainsi fourni 17,3 gr. d'esters méthyliques, qui après vérification de leur neutralité, ont présenté un indice de saponification de 204 correspondant à un mélange d'acides gras de poids moléculaire moyen égal à 261.

Un poids de 17 gr. d'esters a été soumis à une série de distillations sous pression réduite. Le premier fractionnement est résumé dans le tableau suivant :

Eb : 0,6 $\frac{m}{m}$: 140-155° : 10,3 gr.

Eb : 0,6 $\frac{m}{m}$: 155-170° : 4 —

Eb : 0,6 $\frac{m}{m}$: 170-180° : 0,95 --

Ces trois fractions ont été distillées à nouveau et les nouvelles fractions ainsi obtenues ont finalement été réparties en quatre groupes.

A Eb : 0,5 $\frac{m}{m}$: 142-146° : quelques gouttes

B Eb : 0,5 $\frac{m}{m}$: 152-154° : 7,80 gr.

C Eb : 0,5 $\frac{m}{m}$: 154-160° : 2,65 gr.

D Eb : 0,5 $\frac{m}{m}$: 160-174° : 1,70 gr.

La fraction B s'est comportée comme un produit pur et est entièrement passée dans un faible intervalle de température.

L'examen du tableau qui suit montre que la fraction B est formée de *palmitate de méthyle* presque pur, et que la fraction D est constituée par un mélange de *palmitate et de stéarate de méthyle*.

	Point de fusion	Poids moléculaire	
		Ester	Acide
Fraction B.			
Trouvé	27-28°	276	262
Fraction D.			
Trouvé	26°	291	277
Théorie pour :			
palmitate de méthyle			
$C^{17}H^{34}O^2$	28°	274	260
stéarate de méthyle			
$C^{19}H^{38}O^2$	38°	293	284

L'acide palmitique régénéré de son ester méthylique après saponification fondait à 61°.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux précédemment trouvés par GÖFSMANN, qui isola de la graisse de cantharides de l'acide palmitique et de l'acide stéarique, au moyen de la précipitation fractionnée des savons alcalino-terreux en milieu alcoolique (19).

Si on se reporte aux tableaux de VISSNER (20), qui indiquent les points de fusion des différents mélanges d'acides palmitique et stéarique, en fonction de leur pourcentage respectif, nous voyons que les acides saturés de point de fusion égal à 59-59°5 après purification, semblent correspondre à un mélange de :

90 % d'acide palmitique,

et 10 % d'acide stéarique ;

ce qui coïnciderait sensiblement avec le poids molécu-

(19) W. HEINTZ : Ueber die Zusammensetzung des Hammeltags, des Menschenfetts und des Wallraths. *Poggendorfs Annalen*, 1852, **87**, 553.

(20) VISSNER : C.f. Lewkowitsch (trad. française 1929), page 173.

laire moyen trouvé pour les esters méthyliques bruts des acides saturés.

Très répandu dans la nature, l'acide palmitique $\text{CH}_3(\text{CH}_2)^{14}\text{COOH}$ existe probablement dans un grand nombre de graisses et huiles d'insectes. TSUJIMOTO l'a trouvé dans l'huile de chrysalides de vers à soie. Il a aussi été caractérisé dans l'huile de *Mylabris pustulata*, insecte vésicant voisin de la cantharide de Russie, par B. H. IYER et P. RAMASWAMI AYYAR en 1931 ; UENO et YAMASAKI l'ont identifié dans l'huile de mille-pattes en 1934 ; UENO et IKUTA le trouvèrent, également, dans l'huile de chrysalide japonaise, la même année.

L'acide stéarique $\text{CH}_3(\text{CH}_2)^{16}\text{COOH}$ a été identifié dans l'huile de *Mylabris pustulata* par les deux auteurs indous précédemment cités et aussi dans l'huile de *Pyrausta nubilalis* par TIMON-DAVID. UENO et IKUTA, en 1934, ont trouvé cet acide dans les acides saturés d'huile de chrysalide japonaise.

Acides non saturés :

Les acides liquides que nous avons obtenus par la méthode des sels de plomb, sous forme de composés solubles dans l'éther, se présentent, après libération de leurs savons plombiques et décoloration au noir végétal, sous l'aspect d'une huile épaisse de couleur jaune paille.

Ils ont été conservés sous pression réduite dans un dessiccateur. Ils possèdent les indices suivants :

Indice de neutralisation	195
Poids moléculaire moyen	287
Indice d'iode	115

TSUJIMOTO : loc. déjà citée.

B. H. IYER et P. RAMASWAMI AYYAR : loc. déjà citée.

Les essais de séparation du mélange des acides liquides par distillation de leurs esters méthyliques ou éthyliques, préparés suivant la méthode déjà décrite, ont été peu encourageants. En effet, lorsque nous avons tenté un fractionnement des esters éthyliques, par distillation sous un vide de 0,5 $\frac{\text{mm}}{\text{m}}$ de mercure, nous nous sommes constamment trouvé en présence d'un mélange distillant entre 154° et 162°. L'indice de saponification de ce mélange était égal à 180, soit un poids moléculaire moyen de 312, ce qui correspond à un mélange d'acides de poids moléculaire moyen égal à 283.

Nous avons alors essayé sur le reste des acides non saturés, dont nous disposions, la méthode de séparation de TSUJIMOTO et TOYAMA pour les acides fortement non saturés; puis la méthode classique de séparation des dérivés bromés.

1°) Méthode de TSUJIMOTO modifiée par TOYAMA (21) : elle repose sur la solubilité des savons sodiques d'acides fortement non saturés dans l'acétone contenant 10 % d'eau en volume.

On prépare une solution au 1/20 des acides dans l'acétone pure et on sature par une solution concentrée de soude caustique.

Lorsque la réaction du mélange est devenue très légèrement alcaline, on ajoute la quantité d'eau nécessaire pour diluer l'acétone avec 1/10 de son volume d'eau, en tenant compte de la quantité d'eau déjà introduite au cours de la neutralisation par la solution aqueuse concentrée de soude. On refroidit soigneusement dans l'eau glacée et on sépare par essorage les

(21) TOYAMA : *Chem. Umschau*, 1925, **32**, 204.

savons solides. Ces sels insolubles sont ceux des acides non saturés ou faiblement non saturés, les savons sodiques des acides fortement non saturés étant solubles dans l'acétone glacée à 10 % d'eau.

L'application de cette méthode n'ayant pas permis de séparer des acides fortement non saturés, nous avons régénéré les acides de leurs sels, afin de préparer leurs dérivés bromés.

2°) Dérivés bromés : nous les avons préparés suivant la méthode classique dont nous rappellerons le principe :

Les acides non saturés sont dissous dans 4 à 5 volumes d'éther sulfurique anhydre et la solution éthérée refroidie dans un mélange de glace et de sel. On y verse alors du brome goutte à goutte, en agitant continuellement la solution dans le mélange réfrigérant, jusqu'à ce qu'une teinte orangée de la solution éthérée indique un léger excès de brome. On laisse la solution de bromure à basse température et on agite de temps en temps ; au bout d'un instant les bromures insolubles dans l'éther précipitent. Lorsqu'il ne se produit plus de précipité on filtre les bromures sur un creuset filtrant. On lave le précipité avec de l'éther glacé qu'on réunit au filtrat ; on a ainsi séparé un premier groupe de dérivés bromés insolubles dans l'éther glacé (hexabromures).

Le mélange de bromures solubles contient un excès de brome, qu'on élimine en agitant la solution éthérée avec une solution aqueuse d'hyposulfite de sodium pur. On lave ensuite soigneusement la solution éthérée de bromures avec de l'eau distillée, puis on sèche le solvant et on l'évapore à froid.

Le résidu de l'évaporation repris par de l'éther de

pétrole léger (Eb. 30°-50°) laisse précipiter à froid un deuxième groupe de bromures, insolubles dans l'éther de pétrole léger (tétrabromures). On les sépare sur creuset filtrant, on lave à l'éther de pétrole glacé et après élimination du solvant on obtient une troisième fraction, constituée par des bromures liquides solubles à la fois dans l'éther et l'éther de pétrole (dibromures).

A quelque modification près (reprise de chaque fraction par les deux solvants et séjour de 24 heures à la glacière) nous avons utilisé cette méthode qui a fourni les résultats suivants :

A partir de 57 gr. 5 du mélange d'acides non saturés, nous avons obtenu :

- 1°) 11 gr. de dérivés insolubles dans l'éther (a);
75,6 gr. de dérivés bromés solubles.

2°) Par reprise des dérivés solubles dans l'éther, par l'éther de pétrole, nous avons séparé :

- 11,1 gr. de bromures insolubles (b);
64,5 gr. de bromures liquides solubles (c).

Les bromures insolubles dans l'éther (hexabromures) et les bromures insolubles dans l'éther de pétrole (tétrabromures) ont été respectivement purifiés par recristallisation dans le benzène et l'éther. Ils ont donné chacun des composés qui possédaient les caractères suivants :

a) Bromures insolubles dans l'éther : PF=182° ;
Analyse: Subst: 7,870 mgr.; BrAg: 11,355 mgr.; Br% : 61,38. Théorie pour $C^{18}H^{30}O^2Br^6$: PF : 182° ; Br % : 63,3.

Le point de fusion du dérivé bromé et la teneur en halogène permettent de conclure à l'identité avec l'acide hexabromostéarique.

En effet, la théorie pour ce dérivé bromé de l'acide linoléique indique un point de fusion de 182° et une teneur en brome de 63,3 %.

L'obtention de cet acide hexabromostéarique permet de conclure à la présence d'acide linoléique $C^{18}H^{30}O^2$ dans les acides gras non saturés.

Cet acide a déjà été identifié dans plusieurs huiles et graisses d'insectes : en 1929, TSUJIMOTO l'a caractérisé dans l'huile d'*Oxya japonica* et dans celle d'un papillon japonais, l'*Acheta mitrata*.

TIMON-DAVID en a préparé les dérivés hexabromés à partir de quelques huiles de lépidoptères phylophages (*Saturnia Perniy* SCH., *Pieris Brassicae* L., *Thaumetopoea pityocampa* SCH., etc.), ainsi que dans quelques huiles de coléoptères (*Colaspiderma atra* OL., *Leptinotarsa decemlineata* Sc.) et chez certains orthoptères (*Doclostaurus maroccanus* THUMB.)

b) Bromures insolubles dans l'éther de pétrole.

Leur point de fusion est égal à 114° . Le dosage de l'halogène a donné le résultat suivant : substance : 7,435 mgr. BrAg : 9,810 mgr., soit Br % 56,1.

Ces caractères permettent de conclure à l'identité de ce dérivé bromé avec l'acide tétrabromostéarique ; en effet la théorie pour ce tétrabromure dérivé de l'acide linoléique donne : point de fusion 114° et teneur en halogène, 53,3 % *.

L'obtention de ce dérivé permet de conclure à la

* Les écarts entre la teneur en halogène trouvée et celle calculée pour les acides tétrabromostéarique et hexabromostéarique, permettent de supposer la présence d'isomères des acides linoléique et linoléique.

présence d'acide linoléique $C^{18}H^{32}O^2$ dans les acides non saturés examinés.

Cet acide avait déjà été identifié par HUERRE dans la graisse de cochenilles. TSUJIMOTO avait soupçonné sa présence dans l'huile de chrysalides de vers à soie ; et il est probable que cet acide est présent dans un grand nombre de graisses et d'huiles d'insectes possédant un indice d'iode élevé.

c) Bromures liquides, solubles dans l'éther de pétrole : nous avons été amené à les transformer en acides hydroxylés afin de les caractériser.

Nous pouvions opérer la transformation en dérivés hydroxylés directement à partir des acides non saturés. Rappelons que cette transformation repose sur l'action du permanganate en liqueur alcaline et froide sur les acides éthyléniques (22).

Mais nous avons préféré profiter de la séparation des dérivés bromés en trois groupes distincts et transformer le groupe des bromures solubles dans l'éther de pétrole en acides hydroxylés, de la façon suivante :

On transforme d'abord le dérivé bromé en un dérivé acétylé. Pour cela on traite à l'ébullition l'acide bromé, en solution dans l'acide acétique glacial, par un excès d'acétate d'argent, dans un ballon surmonté d'un réfrigérant à reflux. On porte à l'ébullition pendant deux heures et demie puis on laisse refroidir.

On essore le bromure d'argent qui s'est formé, on le lave à l'acide acétique, puis à l'éther. On réunit les solutions acétiques et étherées et on neutralise l'excès d'acide acétique par du carbonate acide de sodium.

(22) K. HAZURA : *Über trocknende Olsäuren. Monatshefte für Chem.* 1888, **9**, 180-207.

Le dérivé acétylé est extrait par agitation à l'éther, la solution étherée est lavée à l'eau distillée et séchée sur du sulfate de sodium anhydre. La distillation du dissolvant donne le dérivé acétylé avec un rendement de plus de 80 %. Il suffit alors de saponifier cet acide acétylé par ébullition pendant 1 heure et demie avec une solution de potasse alcoolique à 10 % pour obtenir le sel de potassium de l'acide hydroxylé. Par addition d'un léger excès d'acide sulfurique dilué au 1/10, on libère l'acide hydroxylé de son sel potassique et on l'extrait à l'éther. Il est ensuite purifié par cristallisation dans l'alcool à 95°.

Nous avons ainsi obtenu des cristaux blancs dont les caractères sont les suivants :

Analyse : substance : 4,045 mgr.; CO² : 10,250 mgr. ; H²O : 4,195 mgr.

Trouvé C % : 69,1 ; H % : 11,5 ; PF : 132°.

Calculé C¹⁸H³⁶O⁴ : C % : 68,3 ; H % : 11,4; PF : 132°.

Poids moléculaire : trouvé 311. Calculé C¹⁸H³⁶O⁴ : 316.

Ces résultats nous autorisent à conclure à l'analyse d'un acide dioxystéarique, c'est-à-dire à la présence de l'*acide oléique* dans cette fraction des acides libres.

L'acide oléique est très commun dans les lipides animaux et végétaux. Au sujet des huiles et graisses d'insectes il a été rencontré par HUERRE qui en a trouvé jusqu'à 35 % dans la graisse de cochenilles ; il a été identifié par THOMS dans l'huile de *Myelobia Smerintha* HUBN ; et par TSUJIMOTO dans l'huile de chrysalides de vers à soie. TIMON-DAVID l'a caractérisé

dans l'huile de *Doryphoras* et en a trouvé environ 40 % dans celle de *Pyrausta nubilalis* HUBN; B. H. IYER et P. RAMASWAMI AYYAR en ont trouvé 46 % dans les acides gras de l'huile de *Mylabris pustulata* FB; G. COLLIN, en 1933, isola 40 % d'acides oléique et linoléique des matières grasses extraites de la larve de *Pachyderma dactris* L.

En résumé, les acides libres constituent 65 % de la graisse brute extraite à l'éther de pétrole de l'échantillon n° 1 des poudres de cantharides de Russie. Ils sont formés par un mélange à parties égales :

D'acides saturés (50 %)	{	palmitique .	$C^{16}H^{32}O^2$
		stéarique . . .	$C^{18}H^{36}O^2$
Et d'acides non saturés (50 %)	{	oléique	$C^{18}H^{34}O^2$
		linoléique .	$C^{18}H^{32}O^2$
		linolénique .	$C^{18}H^{30}O^2$

2) Etude de la graisse neutre

La graisse neutre se présente sous la forme d'une masse pâteuse, fortement colorée en vert, et possédant une odeur aromatique assez prononcée.

L'intensité de sa coloration ne nous a pas permis de déterminer les constantes physiques telles que le pouvoir rotatoire et l'indice de réfraction.

La graisse neutre brute possède les caractères chimiques suivants :

Indice de saponification	173
Indice d'iode	102

On a réalisé la séparation des acides gras et des matières insaponifiables : après ébullition pendant 3 heures au réfrigérant à reflux avec un excès de potasse alcoolique, l'épuisement de la solution alcaline de savons de potassium dissous dans l'eau, a permis, par agitation avec de l'éther, d'extraire les matières insaponifiables. Les solutions éthérées, lavées et séchées, ont été distillées sous pression réduite ; on a ainsi obtenu un poids de 12,5 gr. de matières insaponifiables pour 33 gr. de graisse neutre (soit 38 % de la graisse neutre).

Les acides gras ont été libérés de leur solution hydroalcoolique alcaline par addition d'un excès d'acide sulfurique dilué au 1/10. Après extraction à l'éther, lavage et séchage du solvant, celui-ci a laissé par distillation 16,6 gr. d'acides gras de consistance solide, de couleur verte très accentuée et d'odeur aromatique (soit environ 51 % de la graisse neutre).

Après neutralisation par le carbonate de calcium, et concentration des eaux acides provenant de la décomposition des savons de potassium, nous avons pu caractériser la présence de glycérol à l'aide du réactif de SCHIFF, après sa transformation en acroléine.

Les acides gras bruts provenant de la saponification de la graisse neutre présentaient les caractères chimiques suivants :

Indice de neutralisation	222
Poids moléculaire moyen des acides bruts	252
Indice d'iode	102

Comme précédemment, nous avons scindé ces acides en acides saturés et en acides non saturés par la

méthode des sels de plomb; 100 gr. d'acides gras de la graisse neutre correspondent sensiblement à 50 gr. d'acides saturés et 50 gr. d'acides non saturés.

Au cours de la séparation de ces acides, nous avons pu isoler quelques cristaux de cantharidine impure que nous avons caractérisée par son point de fusion : 217°.

La graisse neutre conservée dans un dessiccateur placé à l'obscurité, s'acidifie très vite : au bout de quatre mois, son indice de neutralisation passe de 0 à 83. Il paraissait donc logique de supposer que les constituants acides des esters neutres étaient les mêmes que ceux que nous avons caractérisés sous la forme d'acides libres.

En effet, les acides non saturés possèdent les indices suivants :

Indice de neutralisation	197
Poids moléculaire moyen	283
Indice d'iode	116

Ces valeurs sont absolument identiques à celles que nous avons déjà signalées pour les acides non saturés étudiés dans le chapitre relatif aux acides libres.

De plus, la bromuration de ces acides non saturés a fourni les dérivés bromés correspondants :

a) Insoluble dans l'éther, PF=181-182°.

b) Insoluble dans l'éther de pétrole, PF=114°.

c) Bromure liquide donnant un acide dihydroxylé PF=132° avec : PM=319.

Les acides saturés bruts possèdent également des caractères voisins de ceux que nous avons signalés dans la même fraction des *acides libres* : indice de neutralisation=221 ; point de fusion=55° ; la méthylation a fourni des esters dont l'indice de saponification égal à 200 correspond à un poids moléculaire moyen pour le mélange d'acides saturés égal à 266.

La graisse neutre est donc constituée par 38 % de matières insaponifiables et par 62 % d'esters du glycérol des acides palmitique, stéarique, oléique, linoléique et linolénique.

3) *Examen de l'huile résiduelle n° 1*

Nous rappelons que sous ce nom, nous désignons la matière grasse, non dissoute par l'épuisement de la poudre de cantharides de Russie par l'éther de pétrole (Eb. 50-70°) et que nous avons extraite par l'éther.

Cette huile est très fortement colorée en vert par de la chlorophylle et elle présente la même odeur que la graisse extraite à l'éther de pétrole.

Elle a été saponifiée en suivant un mode opératoire identique à celui que nous avons employé pour l'étude de la graisse soluble dans l'éther de pétrole : après ébullition avec un excès de potasse alcoolique, les matières insaponifiables ont été extraites de la solution hydroalcoolique alcaline de savons potassiques par épuisement à l'éther. Les acides gras ont été ensuite libérés par acidification par de l'acide sulfurique dilué au 1/10 et extraits à l'éther. Les solutions éthérées respectivement lavées et séchées sont distil-

lées; 100 gr. d'huile résiduelle correspondent à 45 gr. de matières insaponifiables et 52 gr. d'acides gras bruts.

Le glycérol a été caractérisé comme précédemment dans l'eau de saponification, par formation d'acroléine et coloration du réactif de SCHIFF.

Les acides gras bruts ont été purifiés par reprise à l'éther de pétrole léger qui a laissé une partie insoluble constituée par de la chlorophylle (15 % des acides gras) souillée par des traces de cantharidine. Cette fraction a été séparée par filtration et redissoute dans l'alcool. L'examen du spectre d'absorption a permis de caractériser la chlorophylle.

Les acides gras obtenus après cette séparation se présentent sous la forme d'une masse pâteuse faiblement colorée en jaune. Ils présentent les caractères chimiques suivants :

Indice de neutralisation	222
Poids moléculaire moyen	253
Indice d'iode	106

Nous leur avons appliqué la méthode déjà décrite de séparation en acides saturés et acides non saturés par la différence de solubilité des sels de plomb dans l'éther. Les acides gras de l'huile résiduelle étaient constitués par un mélange de 35 % d'acides saturés et de 65 % d'acides non saturés.

Les acides saturés après recristallisation dans l'alcool à 95° fondent à 54-55° et ont un indice de neutralisation égal à 231 ; leur méthylation conduit à des esters qui correspondent très sensiblement au même mélange d'esters palmitique et stéarique que nous avons étudié dans le paragraphe des *acides gras libres*.

En effet, le poids moléculaire de ces esters est égal à 279 et donne comme poids moléculaire moyen du mélange d'acides gras : 265. Les acides non saturés constituent un mélange huileux, de teinte jaune paille et possédant les constantes suivantes :

Indice de neutralisation	200
Poids moléculaire moyen	280
Indice d'iode	129

Leur bromuration a donné les dérivés suivants :

- a) Insoluble dans l'éther, PF=182°.
- b) Insoluble dans l'éther de pétrole, PF=113-114°.
- c) Bromure liquide conduisant à un dérivé dihydroxylé avec : PF=131°, PM=309.

Ces résultats, tout à fait analogues à ceux obtenus au cours de l'étude des acides gras de la graisse N° 1, nous autorisent à conclure à la présence d'esters glycériques des acides palmitique, stéarique, oléique, linoléique et linolénique, dans le mélange des acides gras de l'huile résiduelle N° 1 et montrent la constitution homogène des fractions de lipides extraites successivement à l'éther de pétrole et à l'éther.

4) Etude des matières insaponifiables

Nous avons entrepris séparément l'étude des matières insaponifiables extraites de la graisse N° 1 dissoute à l'éther de pétrole (fraction A) de celles extraites de l'huile résiduelle N° 1 soluble dans l'éther (fraction B).

Leurs principaux caractères sont réunis dans le tableau suivant :

<i>Fraction A</i>	<i>Fraction B</i>
Couleur marron foncé.	Couleur marron foncé.
Consistance pâteuse.	Consistance pâteuse.
Odeur aromatique rappelant le tilleul.	Odeur aromatique rappelant le tilleul.
Pas de déviation sensible du plan de polarisation en solution CCl_4 .	Pas de déviation sensible du plan de polarisation en solution CCl_4 .
Réaction de LIEBERMANN positive.	Réaction de LIEBERMANN positive.
Réaction de SALKOWSKI positive.	Réaction de SALKOWSKI positive.
Réaction de F. H. CARR et E. A. PRICE (23) violet clair.	Réaction de F. H. CARR et E. A. PRICE (23) violet clair.
Indice d'iode 92.	Indice d'iode 92.
Indice d'acétyl 146.	Indice d'acétyl 114.

et montrent que les deux fractions possèdent des caractères identiques à part l'indice d'acétyl.

(23) Cette réaction avait été essayée en vue de la recherche de la vitamine A. Or on sait qu'elle est peu spécifique ; voir en particulier : R. DELABY, S. SABETAY et MM. JANOT, *C. R. Ac. Sc.*, 1934, **198**, 276-178.

Etude de la fraction A

La distillation de 4 gr. 7 de la fraction A s'est effectuée de la façon résumée dans le tableau suivant :

Ebullition sous 0,3 $\frac{m}{m}$	Numéro du fractionnement
120° : 1 goutte	1
120-130° : 0,05 gr.	2
130-140° : 0,30 gr.	3
145-155° : 0,60 gr.	4
180-185° : 0,95 gr.	5
185-190° : 0,40 gr.	6
190-225° : 0,45 gr.	7

Poids total recueilli 2 gr. 75. A partir du 7^e fractionnement, les soubresauts ont rendu impossible toute continuation de la distillation.

Les fractions N° 2, N° 3 et N° 4, faiblement colorées en jaune, avaient après refroidissement une consistance pâteuse. Elles possédaient une légère odeur de tilleul, de même que la fraction N° 1. Les réactions de LIEBERMANN et de SALKOWSKI effectuées sur ces fractions étaient faiblement positives.

Les fractions N° 5, N° 6 et N° 7, plus foncées, présentaient des réactions de LIEBERMANN et de SALKOWSKI nettement positives.

Enfin, le résidu, à peu près inodore, possède également des réactions du cholestérol intenses.

Par cristallisations dans l'alcool absolu, les fractions N° 2, N° 3 et N° 4 ont donné des cristaux blancs en aiguille qui, soumis à de nouvelles cristallisations dans l'alcool (jusqu'à ce que 2 cristallisations successives donnent le même point de fusion) ont permis de

séparer un produit pur dont le point de fusion est égal à 41°.

Cette substance n'absorbe pas le brome en solution chloroformique et ne donne aucun dérivé acétylé par action de l'anhydride acétique, ce qui laisse supposer que ce produit est un hydrocarbure saturé.

Analyse : substance : 4,625 mgr.; CO² : 14,490 mgr.; H²O : 6,100 mgr.

Trouvé : C% : 85,3. H% : 14,7.

Calculé : C²¹H⁴⁴. C% : 85,1. H% : 14,9.

La composition centésimale et le point de fusion de ce carbure permettent de lui attribuer la formule C²¹H⁴⁴ avec un poids moléculaire égal à 296 et d'en faire l'*heneicosane* PF : 40°8.

Nous avons alors réuni les fractions N° 5, N° 6 et N° 7, et par des traitements successifs à l'éther de pétrole et à l'alcool, nous avons séparé le mélange en deux parties : (en effet, des essais d'identification des constituants sur chaque fraction isolée avaient été peu encourageants).

La première partie, soluble dans l'éther de pétrole renferme les hydrocarbures.

La seconde partie, soluble dans l'alcool, renferme les alcools de poids moléculaire élevé.

Des cristallisations fractionnées dans l'alcool nous ont permis d'obtenir, à partir de la fraction soluble dans l'éther de pétrole, une nouvelle quantité de l'hydrocarbure C²¹H⁴⁴ fondant à 41°, et d'un autre hydrocarbure, de point de fusion 65°-66°, sur lequel nous n'avons pu poursuivre nos recherches, en raison de la faible quantité dont nous disposons.

La solution alcoolique contenant les alcools de

poids moléculaire élevé a alors été traitée par le digitonoside, suivant le procédé indiqué par WINDAUS (24) afin d'en séparer les stérols sous forme de complexe insoluble.

Puis le complexe formé a été transformé en dérivé acétylé, afin de caractériser ses constituants.

Nous avons adopté la technique indiquée par MM. RIVALS et MARGAILLAN (25) que nous rappellerons :

On agite pendant 5 minutes avec la solution alcoolique chaude de digitonine (à 2%). On filtre à chaud pour séparer les digitonosides. « Laver le précipité
« 6 fois, avec chaque fois 5 cc. d'éther, sécher 5 minutes vers 30°-40°, dissoudre dans 2 cc. d'acide acétique chaud ; faire bouillir 5 minutes en adaptant
« au tube à essai un petit tube vertical qui fait refroidir
« gérant ascendant. Filtrer sur coton puis laver le
« tout 2 fois avec 1 cc. d'alcool absolu chaud. »

« Evaporer à sec le filtrat et faire sur le résidu
« l'essai d'acétate. A cet effet, on fait bouillir avec
« quelques centimètres cubes d'anhydride acétique,
« puis on chasse l'excès d'anhydride. On reprend
« l'acétate par quelques centimètres cubes d'alcool
« bouillant et on fait cristalliser par refroidissement,
« au besoin à plusieurs reprises. »

Nous avons obtenu par cette méthode un mélange d'acétates dont le point de fusion était égal à 110°.

Par cristallisations fractionnées de ces acétates dans

(24) WINDAUS : Ueber die quantitative Bestimmung des Cholesterinesters in einigen normalen und pathologischen Nieren.

(*Zeitchr. f. physiologische chemie*, 1910, **65**, p. 110-117).

(25) RIVALS et MARGAILLAN : Matières grasses et industries dérivées — cires. 1934, J. B. Baillière, Paris. *Analyse technique des matières grasses*, p. 157.

l'alcool à 95° nous avons séparé ce mélange en trois fractions :

N° 1 de point de fusion = 112°.

N° 2 de point de fusion = 114°.

N° 3 de point de fusion = 117-118°.

Le point de fusion de l'acétate du cholestérol étant de 110-113° et celui de l'acétate du phytostérol de 127 à 137° on voit que la fraction N° 1 possède le point de fusion caractéristique de l'acétate du cholestérol.

Malheureusement au cours des purifications, les quantités d'acétates de ces diverses fractions avaient tellement diminué, que nous n'avons pas pu en poursuivre l'étude.

En résumé, nous avons trouvé dans les matières insaponifiables de la graisse N° 1 :

— *Deux hydrocarbures*, l'un fondant à 41°, que nous avons identifié au carbure $C^{21}H^{44}$ et un autre fondant à 65°-66°, dont nous n'avons pu poursuivre la purification et l'étude en raison du manque de matière.

— *Du cholestérol*, qui a été caractérisé par ses réactions colorées et identifié par le point de fusion de son acétate, après avoir été isolé sous forme de combinaison avec le digitonoside. De plus, les acétates de la fraction N° 3 se trouvaient en trop faible quantité pour pouvoir déterminer s'il s'agissait d'un mélange d'acétates du cholestérol et du phytostérol, ou bien de l'acétate d'un stérol voisin du cholestérol.

Il est intéressant de faire remarquer que quelques huiles et graisses d'insectes renferment des hydro-

carbures. Rappelons que SCHALL a isolé le undécane $C^{11}H^{24}$ de l'huile de fourmis rouges en 1893.

MENOZZI et MORESCHI ont signalé la présence dans l'huile de chrysalides de vers à soie d'un carbure fondant à 41-42°. Ils n'ont pu caractériser cet hydrocarbure qui semble être identique à l'heneicosane $C^{21}H^{44}$ que nous avons trouvé dans la graisse de cantharides.

Le cholestérol existe en petites quantités dans un grand nombre d'huiles et graisses d'insectes, où sa présence peut être décelée par ses réactifs habituels.

LEWKOWITSCH a signalé sa présence dans l'huile de vers à soie.

TSUJIMOTO a affirmé la présence de phytostérol, comme composé introduit sans modifications dans l'économie des végétariens. Toutefois, sa présence est contestée, de même que celle d'un stérol nouveau isolé par MENOZZI et MORESCHI dans la même huile.

Etude de la fraction B

Les matières insaponifiables extraites de l'huile résiduelle N° 1 ont été traitées de la même façon que ci-dessus :

6 gr. 50 distillés dans les mêmes conditions que la fraction A, ont fourni :

— Une première fraction de 1 gr. 50, dont les vapeurs se sont condensées à 130-135°, sous un vide de 0,3 mm de mercure. Elle possédait une faible coloration jaune et pas d'odeur sensible. La réaction du cholestérol (SALKOWSKI, LIEBERMANN.) sur cette fraction est faiblement positive.

Par cristallisations fractionnées dans l'alcool absolu, cette fraction a fourni deux hydrocarbures, l'un fondant à 41° ($C^{21}H^{44}$) et l'autre en très petite quantité fondant vers 65°. Ces résultats sont en accord complet, avec ceux trouvés pour la fraction A.

— Une deuxième fraction, du poids de 0 gr. 55, dont les vapeurs se sont condensées entre 140 et 180°. Elle possédait une coloration marron et donnait une réaction du cholestérol fortement positive.

La deuxième fraction de distillat a été reprise dans l'alcool à 95° et précipitée à chaud par un excès de digitonoside, de la manière que nous avons déjà indiquée. Les acétates préparés à partir du complexe digitonoside-cholestérol ont fourni par cristallisation fractionnée dans l'alcool :

Quelques cristaux fondant à 112-115° et une toute petite quantité de cristaux dont le point de fusion est 118°.

Ainsi les matières insaponifiables contenues dans l'huile résiduelle N° 1, extraite à l'éther, possédaient la même constitution que l'insaponifiable provenant de la graisse N° 1, extraite à l'éther de pétrole.

La répartition approximative des divers groupes constituant les matières grasses extraites de la poudre N° 1 est résumée dans les tableaux qui suivent :

Graisse N° 1 (*éther de pétrole*) 100 gr. contiennent :

Acides gras 82 gr.	{ Saturés	41 gr.
	{ Non saturés.	41 gr.
Matières insaponifiables		10 gr.

Huile N° 1 *Résiduelle (éther)* 100 gr. contiennent :

Acides gras 42 gr.	}	Saturés 15 gr.
		Non saturés. 27 gr.
Chlorophylle		8 gr.
Matières insaponifiables		44 gr.

Enfin, la répartition des divers constituants de la graisse de cantharides, calculée pour la graisse extraite à l'éther de pétrole de la poudre N° 1, donne approximativement :

Graisse N° 1 100 gr. con- tiennent :	}	Acide palmitique ... 37 gr.
		Acide stéarique..... 4 gr.
		Acide oléique..... 32 gr.
		Acide linoléique.... 6 gr.
		Acide linolénique... 3 gr.
		Matières insaponifia- bles 10 gr.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DES LIPIDES EXTRAITS DE LA POUDRE N° 2

GRAISSE N° 2 EXTRAITE A L'ETHER DE PETROLE

Caractères physiques et chimiques. — Cette matière grasse a été retirée de la poudre de cantharides d'origine russe (échantillon N° 2) par extraction à l'éther de pétrole, dans l'appareil de Soxhlet.

Elle présente les mêmes caractères organoleptiques que la graisse N° 1. Toutefois, son odeur est moins aromatique et plus atténuée.

En solution à 4 % dans le tétrachlorure de carbone, elle ne montre pas de déviation appréciable du plan de polarisation.

L'examen spectroscopique d'une solution étherée à 5 % montre une absorption, caractéristique de la chlorophylle, comme pour la graisse N° 1.

Son point de fusion est égal à 34-35°. Sa densité prise dans les conditions que nous avons déjà indiquées et ramenée à 15°, est égale à 0,925.

Une reprise de la graisse N° 2 par 4 volumes d'éther de pétrole léger, suivie d'un séjour de 24 heures à la glacière, a permis de séparer par filtration un poids de 0 gr. 15 de cantharidine presque pure ($Pf = 217^{\circ}-218^{\circ}$).

Une nouvelle addition de 4 volumes d'éther de pétrole léger ne déterminait plus aucun précipité sensible, même après maintien de la solution étherée pendant une semaine à la température de la glacière.

Après élimination du solvant sous pression réduite, nous avons obtenu une graisse non vésicante, complètement privée de cantharidine et sur laquelle nous avons effectué les mêmes manipulations que celles que nous avons déjà signalées au cours de l'étude de la graisse N° 1. Nous avons cependant suivi un schéma analytique simplifié.

Les indices de la graisse brute N° 2 sont les suivants :

Indice de neutralisation	128
Indice de saponification.....	142
Indice d'iode	73
Indice d'acétyle	115

La séparation des acides gras et des matières insaponifiables, par la méthode déjà décrite, a fourni 32 % de matières insaponifiables et 65 % d'acides gras bruts.

La présence du glycérol dans les eaux de saponification a été caractérisée par formation d'acroléine et réaction de SCHIFF.

Etude des acides gras totaux

Les acides gras bruts, de consistance solide et de couleur jaune verdâtre, présentent les indices suivants :

Indice de neutralisation.....	211
Poids moléculaire moyen.....	265
Indice d'iode	82

Séparés en acides saturés et en acides non saturés par la différence de solubilité dans l'éther de leurs sels de plomb, les acides gras bruts ont fourni sensiblement 55 % d'acides saturés et 45 % d'acides non

saturés. Ces acides, en solution étherée, ont été respectivement décolorés au noir végétal et séchés sur du sulfate de sodium anhydre; puis le solvant a été distillé.

Etude des acides saturés

Les acides saturés, purifiés par recristallisation dans l'alcool à 95°, ont les mêmes caractères que ceux que nous avons séparés dans la graisse N° 1 : leur point de fusion est de 54-55° et leur indice de neutralisation est égal à 230.

Nous avons préparé leurs esters méthyliques et effectué la distillation fractionnée du mélange de ces esters. La méthode classique de méthylation par l'alcool en présence d'acide sulfurique comme déshydratant a été abandonnée et nous avons employé comme agent de méthylation le sulfate diméthylique, dans l'espoir d'obtenir un meilleur rendement. En raison de la toxicité du sulfate neutre de méthyle, il convient de prendre des précautions au cours des manipulations. Le mode opératoire est le suivant :

On dissout les acides saturés dans cinq volumes d'alcool à 95° chaud, puis on neutralise exactement avec une solution alcoolique de soude caustique. L'alcool est éliminé par distillation afin d'obtenir le sel de sodium sec des acides gras saturés. Les savons sodiques séchés dans le vide sulfurique sont ensuite introduits dans un ballon surmonté d'un réfrigérant à reflux avec 2 molécules de sulfate neutre de méthyle pour 1 molécule de sel de sodium (mesurer le sulfate diméthylique en centimètres cubes, sachant que sa densité à 15° est égale à 1,32). On chauffe progressi-

vement au bain de sable vers 210° sous une hotte. Le mélange noircit ; on maintient la température pendant 1 heure, puis, après refroidissement, on ajoute cinq volumes d'eau distillée, et on neutralise avec un léger excès d'une solution concentrée de carbonate acide de Na. On extrait les esters méthyliques formés par des agitations répétées avec de l'éther jusqu'à épuisement. On filtre la solution étherée, on la lave à l'eau distillée puis on la sèche sur du sulfate de sodium anhydre. Par distillation du solvant on obtient les esters méthyliques bruts des acides gras.

Nous avons ainsi obtenu 7 gr. 50 d'esters à partir d'un poids de 8 gr. d'acides saturés, soit environ 90 % des acides gras estérifiés.

Le poids moléculaire des esters après vérification de leur parfaite neutralité est de 284 (indice de saponification égal à 197) et correspond à un mélange d'acides saturés possédant un poids moléculaire moyen de 270.

La marche de la distillation fractionnée du mélange d'esters est résumée dans le tableau suivant :

{Poids distillé = 2 gr. 70) :

Ebullition sous 0,40 $\frac{\text{mm}}{\text{m}}$	Numéro du fractionnement
105-110° : 0,45 gr.	1
110-130° : 0,85 gr.	2
130-135° : 0,95 gr.	3

La fraction N° 1 possède un indice de saponification égal à 204; soit pour l'acide gras correspondant un poids moléculaire de 260. Le point de fusion de l'ester est égal à 28° (au tube capillaire). Ces caractères indiquent que cette fraction est constituée par du *palmitate de méthyle* pur.

La dernière fraction possède un indice de saponification de 194; son poids moléculaire est donc égal à 289 et correspond à un mélange d'acides de poids moléculaire moyen égal à 275, soit un mélange *d'acide palmitique* et *d'acide stéarique*.

En résumé, les acides gras saturés de la « graisse N° 2 » sont constitués par un mélange d'acide palmitique $C^{16}H^{32}O^2$ et d'acide stéarique $C^{18}H^{36}O^2$.

Nous avons déjà signalé la présence de ces acides dans le mélange des acides gras de la graisse N° 1.

Etude des acides non saturés

Les acides non saturés, isolés des sels de plomb solubles dans l'éther, ont le même aspect que ceux retirés de la graisse N° 1.

Ils ont aussi des caractères chimiques voisins :

Indice de neutralisation.....	204
Poids moléculaire moyen.....	274
Indice d'iode	124

Leurs dérivés bromés ont exactement les mêmes caractères que ceux que nous avons préparés avec les acides non saturés de la graisse N° 1. On peut également les séparer en :

— *Un bromure insoluble dans l'éther sulfurique* ayant un point de fusion de 182° et correspondant à l'acide linoléique.

— *Un bromure insoluble dans l'éther de pétrole* ayant un point de fusion de 113-114° et correspondant à l'acide linoléique.

— *Un bromure liquide* soluble dans les deux solvants précédents et avec lequel on obtient un dérivé

dihydroxylé dont le point de fusion est égal à 132° et le poids moléculaire à 312, démontrant la présence de l'acide oléique.

Nous retrouvons donc dans le mélange d'acides gras de la graisse N° 2 les mêmes constituants acides que dans la graisse N° 1 :

Acide palmitique.....	$C^{16}H^{32}O^2$
Acide stéarique	$C^{18}H^{36}O^2$
Acide oléique	$C^{18}H^{34}O^2$
Acide linoléique	$C^{18}H^{32}O^2$
Acide linoléique	$C^{18}H^{30}O^2$

Examen de l'huile résiduelle N° 2

Cette huile présentait exactement le même aspect que l'huile résiduelle N° 1. Après saponification de 17 gr. d'huile, nous avons séparé 2 gr.70 de matières insaponifiables (soit 16 %) et 12 gr.80 d'acides gras bruts (soit 75 %). Les acides gras bruts ont abandonné 2 gr.10 de chlorophylle par traitement à l'éther de pétrole léger (soit 12 %).

Le traitement à l'éther des sels de plomb de ces acides gras purifiés a fourni 30 % d'acides saturés et 70 % d'acides non saturés.

Comme le montre l'examen de leurs dérivés, les acides saturés étaient constitués par de l'*acide palmitique* et de l'*acide stéarique*. (point de fusion des acides saturés bruts = 55° ; indice de neutralisation = 230, poids moléculaire des esters méthyliques bruts = 284 et les acides non saturés étaient également formés du même mélange que les fractions correspondantes de la graisse N° 1 et l'huile N° 1 : *acide oléi-*

que, *acide linoléique* et *acide linolénique* (indice de neutralisation = 200 ; indice d'iode = 119 ; dérivés bromés = hexabromure fondant à 182°, tétrabromure fondant à 114° et dibromure liquide dont le dérivé dihydroxylé est de l'acide dioxytéarique PF.=132°).

*Etude des matières insaponifiables
totales extraites de la Poudre N° 2*

Nous avons réuni, pour les étudier ensemble, les deux fractions de matières insaponifiables extraites, l'une de la graisse N° 2, l'autre de l'huile résiduelle N° 2.

L'insaponifiable total ainsi formé présentait les caractères suivants :

Consistance pâteuse. Couleur marron foncé.

Pas de déviation sensible du plan de polarisation
en solution CCl_4 .

Réaction de LIEBERMANN positive.

Réaction de SALKOWSKI positive.

Réaction de F. H. CARR et E. A. PRICE au Cl^3Sb :
violet clair.

Indice d'iode = 111.

Caractères assez voisins de ceux trouvés pour les matières insaponifiables extraites de la poudre N° 1.

Nous avons, dans nos essais antérieurs, constaté la difficulté et l'insuccès de la séparation directe des constituants de l'insaponifiable, par distillation fractionnée, même sous pression très réduite. Nous avons

dans les essais suivants abandonné ce procédé, et adopté la méthode de séparation par les dissolvants.

L'insaponifiable brut a été séparé en deux parties par traitements successifs à l'éther de pétrole léger et à l'alcool à 95° ; les hydrocarbures sont dissous par l'éther de pétrole léger qui ne dissout pas les alcools de poids moléculaire élevé. Ceux-ci sont à leur tour dissous dans l'alcool à 95° qui laisse les carbures non dissous.

Après élimination des solvants sous pression réduite, nous avons obtenu 22 % d'hydrocarbures et 78 % d'alcools.

Les hydrocarbures, colorés en jaune pâle, avaient une consistance solide. Ils n'absorbaient pas le brome et ne donnaient aucun dérivé par action de l'anhydride acétique.

Les stérols formaient un mélange pâteux de couleur marron foncé et présentaient les réactions du cholestérol. (SALKOWSKI-LIEBERMANN).

Etude des stérols

Dissous dans l'alcool à 95° chaud, les stérols ont été précipités par le digitonoside et transformés en acétates de la manière déjà décrite.

La cristallisation fractionnée des acétates a permis de séparer quatre fractions. Après de nouvelles purifications au sein de l'alcool absolu, elles possédaient les points de fusion suivants :

Fraction N° 1.....	112°
Fraction N° 2.....	114°
Fraction N° 3.....	118°
Fraction N° 4.....	122°

Les fractions N° 1 et N° 2 correspondent par leur point de fusion à de l'acétate de cholestéryle. Les fractions n° 3 et n° 4 sont formées, soit par un mélange d'acétates de cholestéryle et de phytostéryle, soit par un mélange d'acétates de stéròls voisins, ce qui n'a pu être déterminé en raison de la trop petite quantité d'acétates qui nous restait après les diverses manipulations.

Etude des hydrocarbures

Le mélange d'hydrocarbures bruts à été soumis à la distillation fractionnée dans le vide. La marche de la distillation de 4 gr. de substance est consignée dans le tableau suivant :

<i>Ebullition sous 0,3 mm</i>	<i>Numéro de la fraction.</i>
115-120°: 0,51 gr.	1
120-130°: 0,33 gr.	2
140° : 0,20 gr.	3

Par cristallisation dans l'alcool à 95° la fraction n° 1 a donné des cristaux blancs qui, repris à nouveau par l'alcool, ont été recueillis et séchés dans le vide. Leur point de fusion est de 41° et ils correspondent à l'hydrocarbure $C^{21}H^{44}$, *l'héneicosane*, déjà isolé dans les matières insaponifiables extraites de la poudre n° 1. Le point de fusion de leur mélange ne varie pas et nous pouvons conclure à leur identité.

La fraction n° 2 du distillat a fourni par cristallisations fractionnées dans l'alcool, une nouvelle quantité du carbure en $C^{21}H^{44}$, ainsi qu'une petite quantité d'un produit de point de fusion 62°.

La fraction n° 3 cristallisée dans l'alcool à 95° a donné un produit blanc de point de fusion 63°. De nouvelles purifications de ce carbure, ont provoqué une élévation du point de fusion jusqu'à 68°-69°. Nous rappellerons que nous avons déjà isolé des matières insaponifiables extraites de la graisse n° 1 un produit fondant à 65°-66°, dont la faible quantité nous avait contraint à abandonner l'étude. Cette fois, un meilleur rendement, a permis l'analyse élémentaire du produit fondant à 68°-69°.

Analyse : substance : 4,485 mgr. ; CO² : 13,895 mgr. ; H²O : 5,710 mgr.

Trouvé : C % : 84,4 ; H % : 14,21.

La somme carbone + hydrogène = 98,61 montre que ce produit renferme encore une impureté se traduisant par près de 1,5 % d'oxygène. Ce fait peut s'expliquer par la grande facilité avec laquelle les paraffines retiennent des traces d'alcool. Le point de fusion (68-69°) du corps analysé permet de supposer qu'il s'agit d'un carbure en C³¹H⁶⁴. En effet, le point de fusion de ce carbure, l'*hentriacontane* est 68° et sa teneur pour cent en carbone et en hydrogène est égale à :

Carbone %	85,3
Hydrogène %	14,7

En résumé, nous avons trouvé dans les matières insaponifiables, extraites de la poudre n° 2, les mêmes constituants que dans celles extraites de la poudre n° 1, c'est-à-dire un mélange de cholestérol avec deux hydrocarbures, dont l'un est l'heneicosane C²¹H⁴⁴.

La répartition approximative des divers groupes

constituant les matières grasses extraites de la poudre n° 2 est résumée dans les tableaux suivants :

Graisse n° 2 (*éther de pétrole*) 100 gr. contiennent :

Acides gras	{ Saturés	36 gr.
65 gr.	{ Non saturés	29 gr.
Matières insaponifiables		32 gr.

Huile n° 2 *Résiduelle (éther)* 100 gr. contiennent :

Acides gras	{ Saturés	19 gr.
63 gr.	{ Non saturés	44 gr.
Matières insaponifiables		16 gr.
Chlorophylle		12 gr.

Pour 100 gr. de matières grasses totales extraites de un kilogramme des poudres n° 1 et n° 2, les résultats deviennent :

Poudre n° 1

100 gr. matières	{	Acides saturés	39 gr.
grasses totales		Acides non saturés	40 gr.
contiennent :		Matières insaponifiables	13 gr.

Poudre n° 2

100 gr. matières	{	Acides saturés	32 gr.
grasses totales		Acides non saturés	32 gr.
contiennent :		Matières insaponifiables	29 gr.

CONCLUSIONS

Nous avons constaté, au cours de notre étude sur les lipides extraits de diverses variétés commerciales de cantharides (*Lytta vesicatoria* Fb.), des fortes différences dans la composition des divers échantillons examinés. Ces différences se manifestent surtout :

1° Dans la *teneur en lipides* de ces échantillons où l'on trouve de 3,5 % jusqu'à 13,5 % de matières grasses. Il est difficile de connaître les causes exactes de ces variations. On peut les attribuer surtout à des différences d'origine géographique et ensuite aux procédés de récolte et de conservation, sur lesquels on ne possède pas de renseignements précis pour une sorte commerciale donnée.

2° Dans la *teneur en cantharidine*, variant de 0,40% à 0,70 %, bien que d'une façon générale ce pourcentage soit assez régulièrement compris entre 0,40 et 0,45 %.

L'analyse de deux échantillons de même dénomination géographique nous a également permis de constater :

1° Que *les lipides extraits de ces deux échantillons commerciaux possèdent les mêmes constituants*, à savoir une grande proportion d'acides libres (acide palmitique, stéarique, oléique, linoléique, linoléinique), une proportion assez faible de ces mêmes acides sous forme d'esters du glycérol et du cholestérol, de la

chlorophylle, et des matières insaponifiables (hydrocarbures : heneicosane et probablement hentriacontane; cholestérol).

2° Que si ces lipides ont présenté une composition « qualitative » constante, la *teneur en divers groupes de constituants est sujette à de notables variations* : ainsi, la quantité de matières insaponifiables des lipides totaux passe de 13 %, dans les matières grasses totales (« graisse » + « huile résiduelle ») extraites de la poudre n° 1, à 29 % dans celles extraites de l'échantillon n° 2.

Ces différences entraînent naturellement une variation dans les valeurs trouvées pour les « *indices* » des lipides de différents échantillons.

On ne saurait donc assigner une place sûre à la graisse de cantharides, dans une classification des huiles et graisses d'insectes qui serait basée sur les indices ou le pourcentage des lipides de ces différentes espèces d'insectes.

Index alphabétique

- BARRUEL (E.). — D'une matière grasse trouvée dans les puce-
rons (A. Rosae et A. Sambuci). *Journ. Chim. méd.*, 1831,
7, p. 486-490.
- BEAUREGARD (H.). — Les insectes vésicants. Paris 1890 (F.
Alcan, édit., p. 190).
- BEAUREGARD (H.) et COUTIÈRE (H.). — Matière médicale zoo-
logique, Paris 1901. (C. Naud, édit., p. 315).
- BUNSUKE SUZUKI et YOSHIKUMI. — Sur la structure chimique
des glycérides du ver à soie. (Yokohama 1927).
- CHEVALLARD (Mlle G.). — Contribution à l'étude chimique du
ver à soie (*Bombyx Mori*), *Thèse Doct. Univ.*, Lyon 1928.
- COLLIN (G.). — Fatty acids from the larva fat of the beetle
Pachydermus dactris. (*Biochem. Journ.* 1933, **27**, p. 1373-
1374).
- COURTOIS-DRILHON (Mme A.). — Etudes biochimiques sur la
métamorphose des lépidoptères. (*Thèse Doct. Sciences*,
Paris, 1931).
- COUTIÈRE (H.). — Le Monde Vivant. (**3**, p. 231).
- DELABY (R.) et BREUGNOT (Y.). — Sur la détermination rapide
de l'indice d'acétyle des corps gras. (*Bull. Sc. Pharm.*, 1932,
39, p. 354).
- DELABY (R.) et CHARONNAT (R.). — Sur la détermination de
l'indice d'iode. (*Bull. Sc. Pharm.*, 1928, **35**, p. 692).
- DELABY (R.), SABETAY (S.) et JANOT (M.-M.). — Sur la carac-
térisation des doubles liaisons par le trichlorure d'anti-
moine. (*C. R. Ac. Sc.*, 1934, **198**, p. 276-278).
- DESVERGNES (I.). — Examen d'huiles de chrysalides. (*Ann.
ch. analyt. et ch. appl.*, 1920, **2**, p. 80).
- DUBOIS (R.). — Sur l'huile d'œufs de la sauterelle d'Algérie
(*Acridium peregrinum*). (*C. R. Ac. Sc.*, 1893, **116**, p. 1393-
1394).
- DUCLAUX. — Sur le dosage des alcools et des acides volatils.
(*Ann. Inst. Pasteur*, 1895, **9**, p. 265-280).

- GÖFSMANN (A.). — Ueber die Natur des Fettes der Canthariden. (*Ann. Chem. u. Pharm.*, 1853, **86**, p. 317-330).
— Ueber die Margarinsäure im Fette der Canthariden. (*Ann. Chem. u. Pharm.*, 1854, **89**, p. 123-125).
- HAZURA (K.). — Über trocknende Olsäuren. (*Monatshefte für Chem.*, 1888, **9**, p. 180-207).
- HEINTZ (W.). — Ueber die Zusammensetzung des Hammel-tags, des Menschenfettes und des Wallraths. (*Poggendorfs Annalen*, 1852, **87**, p. 553).
- HOPPE (F.). — Ueber das Age oder Axin, ein in Mexico bereitetes trocknendes Fett. (*Journ. f. pr. Chem.*, 1860, **80**, p. 102-117).
- HUERRE (R.). — Sur la graisse de Cochenille et la présence d'acide linoléique dans cette graisse. (*Journ. Pharm. Chim.*, 1911, **4**, p. 56).
- IYER (H. B.) et RAMASWAMI AYYAR (P.). — The fatty acids from oil of cantharis (*Mytilus pustulata* Fb., India) (*Journ. of Ind. Inst. of Sciences*, 1931, **14**, p. 40-45).
- KOPP (E.). — Ueber das Maikäferöl. (*Pharm. Monatshefte*, 1926, **7**, p. 175).
- LASSAIGNE. — Note sur l'existence d'une huile fixe dans le ver à soie. (*Journ. chim. méd.*, 1844, **20**, p. 471-472).
- LEWKOWITCH (J.). — *Technologie et analyse chimique des huiles, graisses et cires*. Traduction française de E. Bontoux, 1929.
- LIEBERMANN. — Ueber das Wachs und die Fette der Cochenille, (*Ber. d. D. Ch. Gesell.*, 1885, **18**, p. 1975-1983).
- MAYER (A.) et SCHAEFFER (G.). — Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. (*Journ. Physio. et Pathol. médicale*, 1913, **15**, p. 500-524).
- MENOZZI (A.) et MORESCHI (A.). — Ricerche nel gruppo della colesterina ; bombicisterina. Un nuovo termine del gruppo della colesterina nelle crisalide del baco da seta (*Bombyx Mori*). (*Rend. R. Acad. Lincei*, 1908, **17**, p. 95).
— Presenza di due idrocarburi della Paraffina nella parte non saponificabile del grasso della crisalidi. (*Rend. R. Acad. Lincei*, 1908, **17**, p. 98).
- NORMANN. — Sur une graisse de diptères du genre chironomus. (*Chemical review*, 1913, **20**, p. 187).
- RABOW (S.). — Verwertung der Maikäfer zur Fettgewinnung. (*Chem. Zeit.*, 1916, **40**, p. 401).

- RAIMANN (E.). — Ueber das Fett der Cochenille (*Sitzungsberichte der Wien. Akad.*, 1885, **92**, p. 1126.)
- RIVALS (P.) et MARGAILLAN (L.). — Matières grasses et industries dérivées, cires. (Paris 1934, J. B. Baillière, édit.).
- ROBIQUET (M.). — Expériences sur les cantharides. (*Annales de chimie*, 1810, **76**, p. 304-321).
- ROCCI (U.). — Contribution à la connaissance des graisses d'insectes. (*Arch. ital. de biologie*, 1916, **65**, p. 53).
- SCHALL (C.). — Undecan als Hauptbestandtheil des flüchtigen Ameisenöls. (*Ber. d. D. Ch. Gesell.*, 1892, **25**, p. 1489).
- TERROINE. — Nouvelles recherches sur l'influence de l'inanition et de la suralimentation sur la teneur des tissus en substances grasses et en cholestérine. (*Journ. Physio. et Pathol. médicale*, 1914, **16**, p. 408).
- THOMS (H.). — Ueber ein Schmetterlingsfett. (*Arbeit aus d. Pharm. Inst. d. Univ. Berlin*, 1913, p. 180).
- TICHOMIROW (W.). — Die spectroscopischen Eigenschaften der Canthariden und ihrer Präparate. (*Separatabdruck aus der pharmaceutischen Zeitschrift für Russland*, 1884).
- TIMON-DAVID (J.). — Recherches sur les matières grasses des insectes. (*Thèse Doct. Sciences*, Paris 1930).
- TOYAMA. — *Chem. Umschau*. 1925, **32**, p. 204.
- TSUJIMOTO (M.). — Chrysalis oil ; composition. (*Journ. Coll. Engineering, Imp. University, Tokio*, 1908, p. 455).
- Untersuchungen von Insektenölen-I. Leuchtkäfer, Heuschrecken und Grillenöl, 1929, résumé dans *Chem. Umschau*, **13**, p. 209.
- UENO (S.) et YAMASAKI (R.). — Recherches sur l'huile de mille-pattes. (*Journ. Soc. Chem. Ind. Japan*, 1934, **37**, p. 507-510).
- UENO (S.) et IKUTA (H.). — The composition of the saturated fatty acids of Japanese chrysalis oil. (*Analyst*, 1934, **59**, p. 745-746).
- VARRENTRAPP. — Ueber die Oelsäure. (*Ann. Chem. u. Pharm.*, 1840, **35**, p. 197).
- WAUNG (L. C.). — Etude du produit huileux de la drogue chinoise « Chiu-hsiang-chung » provenant de l'insecte *Aspongopus chinensi*. Dallas. (*Journ. Pharm. Soc. Japan*. 1935, **55**, p. 8-14).
- WINDAUS. — Ueber die quantitative Bestimmung des Cholesterinesters in einigen normalen und pathologischen Nieren. (*Zeitchr. f. physiologische Chemie*, 1910, **65**, p. 110-117).
- WITTSTEIN. — « Maikäferöl ». (*Handwörterbuch der reinen und angewandten Chemie*, 1851, **5**, p. 56).

Table des matières

	Pages
INTRODUCTION	7-12

CHAPITRE PREMIER

<i>Description de la drogue.....</i>	13-16
<i>Caractères généraux des divers échantillons de</i>	
<i>Lytta vesicatoria</i>	16-17
<i>Procédés d'extraction des lipides.....</i>	18-19
<i>Méthodes d'analyse employées.....</i>	19-22

CHAPITRE II

PREMIÈRE PARTIE :

Lipides extraits de la poudre N° 1

Graisse N° 1

<i>Caractères physiques et chimiques.....</i>	23-25
<i>Acides Libres</i>	25-28
<i>Acides saturés</i>	28-31
<i>Acides non saturés</i>	31-38
<i>Graisse neutre</i>	38-41
<i>Huile résiduelle N° 1.....</i>	41-43
<i>Matières insaponifiables</i>	43-51

DEUXIÈME PARTIE

Lipides extraits de la poudre N° 2

Graisse N° 2

<i>Caractères physiques et chimiques.....</i>	52-53
<i>Acides saturés</i>	54-56
<i>Acides non saturés</i>	56-57
<i>Huile résiduelle N° 2.....</i>	57-58
<i>Matières insaponifiables</i>	58-61
CONCLUSIONS	63-64
INDEX ALPHABÉTIQUE	66-68

